



聚合草 (*Symphytum Officinale* L.) 组织培养成株研究简报

赵成章、孙宗修、林元文
(浙江省农业科学院 水稻所、畜牧所)

近年来,植物组织培养技术在无性系繁殖及良种培育方面得到了广泛的应用^[5,8]。在牧草组织培养的研究方面,国内外主要集中在豆科植物,并已从埃及车轴草(*Trifolium alexandrinum* L.)等外植体获得再生植株^[9]。对紫草科牧草的组织培养的研究迄今未见报导。

聚合草系紫草科(*Boraginaceae*)聚合草属(*Symphytum*)的一种多年生的高产优质饲料作物,它的粗蛋白含量占干物质30%左右,青草年产每亩3万斤上下,对畜禽除生喂外,还可青贮和制干粉作配合饲料。其原产地为欧洲及高加索,引进我国南方后,往往由于高温干旱引起越夏烂根死亡^[1],严重影响了聚合草的推广与应用。

我们于1979年起进行聚合草各种器官外植体经过愈伤组织再生植株的研究,试图通过这一途径来培育抗逆性强,适应于我国南方生长的聚合草及提高它色氨酸含量。现将试验情况简报如下:

材料和方法

供试材料为聚合草(*Symphytum Officinale* L.)^[3]。四月一日田间取样。此时植株处于现蕾期。材料经4℃冷藏后(或不经冷藏)进行表面灭菌,再在无菌条件下把聚合草的根、根出叶、叶柄、茎、芽与花蕾切成2—3毫米的小段,分别接种在培养基上。培养温度为 $26 \pm 1^\circ\text{C}$,开始十天为暗培养,以后每天光照10小时,光照强度为2000米烛光。

基本培养基为MS^[10]、N₆^[2]、含5^[6]、马

铃薯简化培养基^[4]、蔗糖浓度在去分化培养基为3—5%,分化培养基为2—3%。分化培养基中,除了去掉2,4-D之外,其余激素的水平降低或全部去掉。

分化的试管苗移入温室,在温室的自然光照下练苗数天后,移入钵或大田,上搭荫棚保苗至成活。

试验结果

一、愈伤组织的诱导

接种后五天左右开始出现愈伤组织,两周后为出现愈伤组织的高峰期。愈伤组织通常先为白色或浅绿细。以后逐渐转变为浅棕色,一个月后老化变黑。除根切段污染外,茎、叶、叶柄、芽、花蕾的外植体都能诱导产生愈伤组织,其中茎、叶柄出愈最早,芽、花蕾次之,叶片最迟。冷藏处理能明显促进愈伤组织的诱导。

培养基对愈伤组织的诱导有一定的作用,以N₆最佳,愈伤组织出现早、呈浅绿色,多而大,MS次之,在马铃薯简化培养基上几乎不出现愈伤组织。

二、愈伤组织的分化和成苗

愈伤组织转移到分化培养基上9天后开始分化。一般先出现白色茸毛的白色胚状物(图版1)随后胚状物变绿、长出绿叶,其上有白色细密刚毛、(图版5),再长出根。也有少数先发根再出芽的。绿苗出现后在其周围相继长出许多绿芽而形成簇生状(图版2),此外,还有一定数量的愈伤组织在去分化培养基上就发生分化,长出再生小植株(图版4)。

本试验中、茎、叶、叶柄、花蕾、芽的愈伤组织均能发生分化(图版1、2、3),其中芽与花蕾分化最快,茎与叶柄其次,叶片分化最慢,约需75天。但是再生小植株的数目则相反,以叶最多,芽与花蕾较少。据转移后87天统计,平均每管叶所分化的小植株可达71株(表1)。

表1 聚合草不同器官愈伤组织的分化

器 官	芽	花蕾	茎	叶柄	叶片
接种管数	3	5	4	2	11
分化始期*(天)	9	12	46	50	75
每管小植株数	13.5	5.2	51	1	71

* 1. 均以转移之日起算。

2. 每管转移2块愈伤组织。

分化培养基的种类与激素水平对愈伤组织的分化关系极大。在本试验中,愈伤组织只有在不附加任何激素成份的N₀培养基上才能分化。

分化的小植株移栽入土后,已成活,目前生长良好。

讨 论

一、饲料作物要在较粗放条件下高产优质,这就要求它有较强的抗逆性。组织培养技术应用于植物抗逆性的筛选方面已有了成功的先例^[7,12]。针对聚合草在推广中存在的问题,我们设想,应用这一技术,结合其它育种手段,有可能筛选出适应于南方环境的新品种。此外,我们利用的是聚合草的营养体,而组织培养是获得营养体的有效手段^[11],因此,应用这一技术有可能获得营养生长超过二倍体的多倍体聚合草。加之,叶片在植株中所占的比重极大,聚合草的叶片虽然愈伤组织的诱导和分化较慢,但分化出的小植株最多,这为组织培养的取材和无性系的建立提供了极为

有利的条件。因此,我们认为,聚合草组织培养的研究可能为我国的牧草、饲料作物的育种增添一条新的途径。

二、植物愈伤组织的分化需要有一定种类的激素并在一定的激素水平下才能顺利进行。本试验中,聚合草的愈伤组织在含激素的分化培养基上虽然也能增大,但很快变褐老化,几乎都不能分化,而在无激素的N₀培养基上都能分化成苗。花蕾、芽、茎、叶、叶柄的外植体愈伤组织的反应基本一致,这可能与聚合草体内含有相当高水平的内源激素有关。聚合草各器官外植体的愈伤组织旺盛而迅速的生长也间接证明了这一点。对这一问题作进一步研究无疑是十分重要的。

参 考 文 献

- [1] 四川省农科院畜牧所, 1978, 聚合草, 3—4: 138—140.
- [2] 朱至清等, 1975, 中国科学, 5: 484—490.
- [3] 朱榕麟, 1978, 植物分类学报, 16: 97.
- [4] 欧阳俊闻等, 1977, 花药培养学术讨论会文集, 58—64, 科学出版社, (1978).
- [5] 罗士韦, 1978, 植物生理学报, 4: 91—112.
- [6] 黄鸿枢等, 1977, 花药培养学术讨论会文集, 29—39, 科学出版社, (1978).
- [7] Carlson, P. S. 1973, *Science* 180: 1366—1368.
- [8] Hussey, G: 1978 *Sci. Prog. Oxf* 65: 185—208.
- [9] Mokntarzadeh, A. and Constantin, M. J. 1978. *Crop Sci.* 567—572.
- [10] Murashige, T., Skoog, F. 1962 *Physiol. Plant* 15: 473—497.
- [11] Reinet, J., Y. P. S. Bajaj, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 1977 Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.
- [12] Zenk, M. H. Haploids in Physiological and Biochemical Research 1974 In: Kasha, K. J. (ed): *Haploids in Higher Plant Saduances and Potential* 1974 Univ. of Guelph, Guelph Ontario.